

Министерство образования и науки РФ

Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования

«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

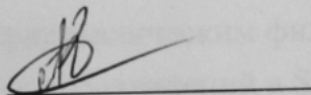
Специальность: 06.03.01 (ОКСО 020400.62) – биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
Бакалаврская работа

**ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВЫХ ЧЕТВЕРТИЧНЫХ
АММОНИЕВЫХ СОЛЕЙ НА ОСНОВЕ ПИРИДОКСИНА ПРОТИВ
БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТОК В СОСТАВЕ БИОПЛЕНКИ**

Работа завершена:

«1» 06 2017 г.



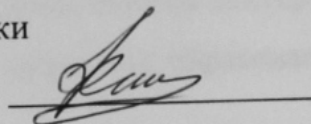
(А.Э.Замальдинова)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель:

к.б.н., доцент кафедры генетики

«1» 06 2017 г.

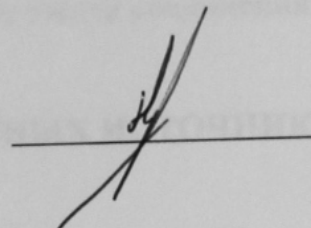


(А.Р. Каюмов)

Заведующий кафедрой

д.б.н., профессор

«1» 06 2017 г.



(В.М. Чернов)

Казань – 2017

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|--|-----------|
| СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ | стр. 3 |
| ВВЕДЕНИЕ | 4 |
| 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ | 6 |
| 1.1 Классификация антимикробных соединений | |
| 1.2 Четвертичные аммониевые соединения | 8 |
| 1.3 Механизм действия ЧАС | 11 |
| 1.4 Механизмы устойчивости бактерий к ЧАС | 12 |
| 1.5 Биопленки | 14 |
| Заключение | 16 |
| ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ | |
| 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ | |
| 2.1 Исследуемые соединения | 17 |
| 2.2 Использованные штаммы | 17 |
| 2.3 Питательные среды и условия культивирования | 17 |
| 2.4 Определение минимальной подавляющей и бактерицидной концентрации (МПК и МБК) | 18 |
| 2.5 Определение количества жизнеспособных клеток (Drop plate) | 19 |
| 2.6 Флуоресцентная микроскопия | 19 |
| 2.7 Окрашивание биопленок кристаллическим филетовым | 20 |
| 2.8 Определение генотоксичности соединений в SOS-хромотесте | 20 |
| 2.9 Определение мутагенности соединений в тесте Эймса | 21 |
| 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЯ | |
| 3.1 Антибактериальная активность соединений в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий | 23 |
| 3.2 Способность соединений подавлять образование биопленки | 28 |
| 3.4 Характеристика генотоксичности соединений | 30 |
| ВЫВОДЫ | 33 |
| СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ | 34 |

ВВЕДЕНИЕ

Многие патогенные и условно-патогенные микроорганизмы способны формировать сообщества микробных клеток - биопленки, погруженные в так называемый полисахаридный матрикс [Croes *et.al.*, 2009]. Биопленки образуются на поверхности медицинских приборов, катетеров и пластиковых имплантатов, вызывающих хронические реинфекции и воспалительных осложнений в послеоперационном периоде [Hilbert *et.al.*, 2006]. Бактерии в составе биопленки чрезвычайно устойчивы к биоцидам, антибиотикам и иммунной системе человека [Croes *et.al.*, 2009; Hoiby *et.al.*, 2010]. Также бактерии чрезвычайно быстро накапливают различные мутации и приобретают гены устойчивости к антибиотикам за счет горизонтального переноса генов, который происходит значительно быстрее в составе биопленки, что приводит к появлению штаммов с очень высоким уровнем устойчивости к антибиотикам [Katie *et.al.*, 2014]. Поэтому поиск новых эффективных антибактериальных соединений является актуальной задачей современной фармацевтики.

Одними из широко используемых в настоящее время антимикробных дезинфицирующих и антисептических препаратов являются катионные поверхностно-активные соединения в виде четвертичных аммониевых солей [Lattmann *et.al.*, 2004; Simoysh, *et.al.*, 2010], например, мирамистин, флуомизин, бензалкония хлорид [Tischer *et.al.*, 2012]. С 1930 - х годов, четвертичные аммониевые соединения широко используются для контроля роста бактерий в клинических и промышленных условиях и являются противомикробными и противогрибковыми препаратами широкого спектра действия [Obłak *et.al.*, 2013]. В НОЦ Фармацевтики КФУ на основе пиридоксина (витамина В₆) были синтезированы соединения, 3 из которых под условными номерами Gp3, Gp4, Ap106 в предварительных исследованиях продемонстрировали высокую эффективность против клеток *Stahylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis* с множественной лекарственной устойчивостью.

Целью работы было оценить антибактериальную активность производных четвертичных аммониевых солей на основе пиридоксина.

В соответствии с поставленной целью в работе решались следующие **задачи**:

1) Установить антибактериальную активность соединений Gr3, Gr4, Ap106 в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий в планктонной форме и в составе биопленки.

2) Определить способность соединений Gr3, Gr4, Ap106 подавлять образование биопленки грамположительных и грамотрицательных бактерий.

3) Оценить генотоксичность соединений Gr3, Gr4, Ap106 в тесте Эймса и SOS-хромотесте.